

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ПРОТЕОЛІЗУ, ФІБРИНОЛІЗУ ТА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КІРКОВІЙ РЕЧОВИНІ НИРОК ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

А.О. Міхеев, Є.М. Горбань

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ЧЕРНІВЦІ
ІНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ, КИЇВ

В інтактних лабораторних щурів різного віку – молодих (2-3 міс.), дорослих (5-7 міс.) і старих (18-20 міс.) – виявлено вікові особливості перебігу процесів перекисного окиснення ліпідів, необмеженого протеолізу і фібринолізу в тканині нирок, а також встановлено вікові особливості активності антиоксидантних ферментів. Отримані результати свідчать про відмінності перебігу цих процесів у нирковій тканині в різні вікові періоди, що може суттєво впливати на взаємодію нирок із ксенобіотиками і повинно враховуватись при проведенні токсикологічних досліджень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нирки, вік, протеоліз, фібриноліз, перекисне окиснення ліпідів.

ВСТУП. Обмін речовин та енергії досить повно вивчено у дорослої людини, організм якої перебуває у стані відносної рівноваги із зовнішнім середовищем. У дитячому та старечому віці біохімічні процеси змінюються, при цьому енергопластичне забезпечення організму зазнає кількісних та якісних змін [2, 9]. Тому за сучасних екологічних умов особливого значення набуває визначення вікових особливостей реакції організму, його клітин, тканин, органів і систем на поліполютантне навантаження. Це стосується, зокрема, функції нирок та водно-сольового обміну, оскільки нирки є одним з основних органів виведення ксенобіотиків з організму [6].

Відомо, що ферментативна активність ниркової тканини у лабораторних щурів істотно відрізняється залежно від віку. В старих тварин у мембранах щіткової облямівки проксимального каналця істотно знижується активність ендопептидази [КФ 3.4.21.16] [13]. У 18-місячних щурів у клубочках нирок збільшується вміст супероксиданіона, пероксиду водню та каталази [КФ 1.11.1.6] поряд із зростанням вмісту продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою [14]. З віком у тканинах органів щурів (печінка, серце) спостерігається підвищення активності глутатіонредуктази [КФ 1.6.4.1], глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9],

© А.О. Міхеев, Є.М. Горбань, 2007.

каталази [КФ 1.11.1.6] за зниження активності супероксиддисмутази [КФ 1.15.1.1] [15]. Встановлено циркадіанну організацію фібринолітичної та протеолітичної активності тканин органів, зокрема нирок [1]. Проте в літературі відсутні дані про перебіг процесів ліпопероксидації, протеолітичну та фібринолітичну активність тканини нирок щурів різного віку, хоча відомо, що перебіг цих біохімічних процесів істотно впливає на функціонування нирок та підтримання гомеостазу [7].

Тому метою нашої роботи було дослідження та зіставлення перебігу процесів протеолізу, фібринолізу та перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у кірковій речовині нирок інтактних щурів різного віку.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 45 білих безпородних щурах-самцях трьох вікових груп: молодих (2-3 міс., маса тіла – 60-80 г), статевозрілих (5-7 міс., маса тіла – 120-180 г) і старих (18-20 міс., маса тіла – 350-450 г).

Евтаназію тваринам проводили під легкою ефірною анестезією. Нирки забирали та заморожували у рідкому азоті. З кіркової речовини готували гомогенати – 120 мг кіркової речовини у 1,2 мл 0,05 М Трис-НСІ буфера (рН-7,4).

Стан ПОЛ у тканині кіркової речовини нирок оцінювали за рівнем малонового діальдегіду

(МДА) [8] та дієнових кон'югат (ДК) [3]. Крім того, визначали активність ферментів антиоксидантного захисту – каталази (Кат) [КФ 1.11.1.6] [4], супероксиддисмутази (СОД) [КФ 1.15.1.1] [10] та глутатіонпероксидази (ГПО) [КФ 1.11.1.9] [5]. Рівень білка у кірковій тканині нирок визначали за методом Лоурі [12].

Стан ферментативного та неферментативного фібринолізу оцінювали за рівнем лізису азофібрину ("Simko Ltd.", Львів). Внаслідок лізису азофібрину за наявності ϵ -амінокапронової кислоти як інгібітора ферментативного фібринолізу визначався неферментативний фібриноліз, а за її відсутності – сумарний фібриноліз. Різниця між цими показниками відображала стан ферментативного фібринолізу. За аналогічною методикою вивчали стан протеолітичної активності на основі результатів реакцій з азоальбуміном, азоказеїном та азоколом.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дослідження перебігу процесів ліпопероксидації у тканині кіркової речовини нирок тварин усіх вікових груп не виявили змін вмісту ДК (табл. 1), тоді як рівень МДА зростав на 158 % ($p < 0,01$) у дорослих порівняно з молодими тваринами,

а у старих знижувався на 20 % ($p < 0,001$) відносно рівня у молодих щурів та на 50 % ($p < 0,01$) відносно рівня у дорослих щурів.

Рівень білка у кірковій речовині нирок з віком практично не змінювався, а активність СОД знижувалась на 21 % у дорослих та на 19 % у старих тварин порівняно з молодими. Активність Кат була найвищою у молодих щурів, а активність ГПО кіркової речовини нирок зростала у дорослих на 169 % та знижувалася у старих на 30 % ($p < 0,05$).

У дорослих щурів у кірковій речовині нирок, порівняно з молодими, зростав лізис низькомолекулярних білків, величина якого у старих щурів дещо знижувалася (табл. 2). Колагеназна активність зростала у дорослих тварин втричі (на 309 %, $p < 0,001$) і залишалася високою у старих щурів (273 % від рівня молодих тварин, $p < 0,001$). Лізис високомолекулярних білків, навпаки, з віком починав знижуватися – у дорослих на 21 % ($p < 0,01$) порівняно з молодими, у старих на 33 % ($p < 0,001$) порівняно з молодими тваринами та на 15 % ($p < 0,01$) порівняно з дорослими щурами.

Активність тканинної фібринолітичної системи була найвищою у дорослих щурів. Зростав сумарний фібриноліз на 138 % ($p < 0,05$),

Таблиця 1 – Перекисне окиснення ліпідів у кірковій речовині нирок щурів різного віку ($x \pm Sx$)

Показники	Вікові групи тварин		
	Молоді, n=15	Дорослі, n=15	Старі, n=15
Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	0,45±0,03	0,48±0,05	0,47±0,05
Малоновий діальдегід, нмоль/мг білка	0,65±0,04	1,03±0,12*	0,52±0,05*#
Білок за Лоурі, мг/г тканини	176,33±6,11	200,68±18,29	170,91±11,89
Супероксиддисмутаза, Од/хв/мг білка	0,23±0,01	0,18±0,03	0,19±0,02
Глутатіонпероксидаза, мкмоль G-HS/хв/мг білка	0,26±0,02	0,39±0,07	0,23±0,03*
Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	25,19±0,83	16,58±1,35*	17,63±1,04*

Примітка. n – кількість спостережень;

* – відмінність показників вірогідна порівняно з молодими тваринами;

– відмінність показників вірогідна порівняно з дорослими тваринами.

Таблиця 2 – Стан необмеженого протеолізу та фібринолізу кіркової речовини нирок щурів різного віку ($x \pm Sx$)

Показники	Вікові групи тварин		
	Молоді, n=15	Дорослі, n=15	Старі, n=15
Протеоліз за азоальбуміном, E ₄₄₀ /год/г тканини	51,75±3,39	59,57±1,14*	56,33±5,38
Протеоліз за азоколом, E ₄₄₀ /год/г тканини	3,32±0,23	10,29±0,77*	9,08±0,86*
Протеоліз за азоказеїном, E ₄₄₀ /год/г тканини	69,40±3,44	54,33±3,11*	46,12±2,41*#
Сумарний фібриноліз, E ₄₄₀ /год/г тканини	86,66±4,99	120,28±12,25*	64,72±4,90*#
Неферментативний фібриноліз, E ₄₄₀ /год/г тканини	23,61±1,85	46,76±5,19*	33,25±3,98*#
Ферментативний фібриноліз, E ₄₄₀ /год/г тканини	63,05±4,69	73,53±14,52	31,48±6,94*#

Примітка. n – кількість спостережень;

* – відмінність показників вірогідна порівняно з молодими тваринами;

– відмінність показників вірогідна порівняно з дорослими тваринами.

в основному за рахунок підвищення рівня неензиматичного розщеплення фібрину (на 198 %, $p < 0,001$). У старих тварин показники рівня фібринолізу кіркової речовини нирок були різко знижені порівняно як з дорослими, так і з молодими щурами.

З огляду на отримані дані, можна зробити такі висновки. Активність антиоксидантних ферментів у кірковій речовині нирок підвищується в дорослому віці, що забезпечує стійкий захист від пероксидної модифікації ліпідів мембран клітин та їх ефективне функціонування. Зниження цієї активності з віком є наслідком вікових змін, що в кінцевому результаті призводить до дистрофії епітелію канальців, гіпертрофії із розростанням сполучної тканини та до зміни функціонування ниркових клітин.

Зростання рівня процесів необмеженого протеолізу в кірковій речовині нирок щурів сягає максимуму в дорослому віці, особливо це стосується лізису білків різної молекулярної

маси із стійким підвищенням колагеназної активності впродовж усього періоду спостереження. Це свідчить про підвищення з віком рівня процесів катаболізму білка у кірковій речовині нирок. Крім того, максимуму в дорослому віці сягає також і тканинна фібринолітична активність, що забезпечує ефективне розщеплення новоутвореного фібрину в ниркових канальцях. Зниження її рівня у старих тварин може призводити до відкладання фібрину в ниркових структурах з наступним фібриноїдним переродженням тканини [11].

ВИСНОВКИ. Виявлені зміни перебігу біохімічних процесів у кірковій речовині нирок інтактних щурів різного віку можуть істотно впливати на функціональний стан нирок. Це, у свою чергу, впливатиме на взаємодію нирок з різноманітними ксенобіотиками та повинно враховуватися при проведенні токсикологічних досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бойчук Т.М. Біоритми тканинного фібринолізу // *Експерим. та клін. фізіол. та біохім.* – 1998. – № 1. – С. 16-21.
2. Вельтищев Ю.Е., Ермолаев М.В., Ананенко А.А., Князев Ю.А. Обмен веществ у детей. – М.: Медицина, 1983. – 464 с.
3. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // *Лаб. дело.* – 1983. – № 3. – С. 33-35.
4. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16-18.
5. Мещишен И.Ф. Механизм действия четвертичных аммониевых соединений (этония, тиония, додекония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.04 – биохимия. – К., 1991. – 37 с.
6. Наточин Ю.В. Основы физиологии почки. – Л.: Медицина, 1982. – 208 с.
7. Рябов С.И., Наточин Ю.В. Функциональная нефрология. – С.Пб.: Лань, 1997. – 304 с.
8. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // *Современные методы в биохимии.* – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
9. Фролькис В.В. Физиологические механизмы старения. – К.: Наукова думка, 1982. – 320 с.
10. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // *Лаб. дело.* – 1985. – № 11. – С. 678-681.
11. Kafner A. Role of coagulation in glomerular injury // *Toxicol. Lett.* – 1989. – **46**, № 1-3. – P. 81-93.
12. Lowry O.H., Rosebrough N.I., Farr A.L., Randall R.I. Protein measurement with Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**, № 1. – P. 265-275.
13. Reckelhoff J.F., Baylis C. Proximal tubular metalloprotease activity is decreased in the senescent rat kidney // *Life Sci.* – 1992. – **50**, № 13. – P. 959-963.
14. Ruiz-Torres P., Lucio J., Gonzales-Rubio M. et al. Oxidant/antioxidant balance in isolated glomeruli and cultured mesangium cells // *Free Rad. Biol. and Med.* – 1997. – **22**, № 1-2. – P. 49-56.
15. Tian L.Q., Cai Q.Y., Wei H.C. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage of macromolecules in different organs of rats during aging // *Free Rad. Biol. Med.* – 1998. – **24**, № 9. – P. 1477-1484.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ПРОТЕОЛИЗА, ФИБРИНОЛИЗА И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КОРКОВОМ ВЕЩЕСТВЕ ПОЧЕК КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

А.А. Михеев, Е.Н. Горбань

**БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ
ИНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ**

Резюме

У интактных лабораторных крыс разного возраста – молодых (2-3 мес.), взрослых (5-7 мес.) и старых (18-20 мес.) – обнаружены возрастные особенности протекания процессов перекисного окисления липидов, неограниченного протеолиза и фибринолиза в ткани почек, а также установлены возрастные особенности активности антиоксидантных ферментов. Полученные результаты свидетельствуют об отличиях протекания этих процессов в почечной ткани в различные возрастные периоды, что может существенно влиять на взаимодействие почек с ксенобиотиками и должно учитываться при проведении токсикологических исследований.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: почки, возраст, протеолиз, фибринолиз, перекисное окисление липидов.

PECULIARITIES OF PROTEOLYSIS, FIBRINOLYSIS AND LIPID PEROXIDATION IN RENAL CORTICAL SUBSTANCE AT DIFFERENT-AGED RATS

A.O. Mikheev, Ye.M. Horban

**BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI
INSTITUTE OF GERONTOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV**

Summary

In intact laboratory rats of different age: young (2-3 mon), adult (5-7 mon) and old (18-20 mon) the peculiarities of lipid peroxidation, unlimited proteolysis and renal tissue fibrinolysis processes were detected and the age peculiarities of antioxidant enzymes activity were determined as well. The obtained results prove the differences of these processes course in renal tissue during different life periods, that can significantly influence the renal interactions with xenobiotics and must be taken into account during the toxicological investigations.

KEY WORDS: kidneys, age, proteolysis, fibrinolysis, lipid peroxidation.

Отримано 11.04.2007 р.

Адреса для листування: А.О. Міхєєв, Буковинський державний медичний університет, вул. Чапая 43А/48, Чернівці, 58022, Україна.